

مقایسه خاموش کننده‌های فلورسنت و غیرفلورسنت روش Real-time PCR در پلات‌های آمپلیفیکیشن استاندارد ژن دلتا-۶ دساتوراز در کشت سلولی رده PANC-1

دکتر مهدی سهمانی* دکتر مسعود دارابی** شیما بیابگوی*** دکتر رضا نجفی‌پور**** دکتر تقی ناصرپور فریور***** دکتر مریم دارابی امین*****

* استادیار بیوشیمی بالینی مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی دانشگاه علوم پزشکی قزوین
 ** استادیار بیوشیمی بالینی مرکز تحقیقات کاربردی دارویی دانشگاه علوم پزشکی تبریز
 *** کارشناس ارشد بیوتکنولوژی دانشگاه علوم پزشکی قزوین
 **** استادیار ژنتیک مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی دانشگاه علوم پزشکی قزوین
 ***** استاد میکروپزشناسی مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی دانشگاه علوم پزشکی قزوین
 ***** استادیار بیوشیمی بالینی دانشکده علوم پزشکی مراغه و مرکز تحقیقات کاربردی دارویی دانشگاه علوم پزشکی تبریز

آدرس نویسنده مسؤول: تبریز، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، مرکز تحقیقات کاربردی دارویی، تلفن ۰۹۱۲۸۸۰۳۴۷۱

Email: mdarabiamin@hotmail.com

تاریخ پذیرش: ۹۲/۶/۲۰

تاریخ دریافت: ۹۲/۲/۴

*چکیده

زمینه: استفاده از خاموش کننده‌های غیرفلورسنت در روش Real-time PCR برای بررسی بیان ژن مناسب است.

هدف: مطالعه به منظور مقایسه توانایی دو نوع خاموش کننده فلورسنت و غیرفلورسنت با توجه به نتایج Real-time PCR انجام شد.

مواد و روش‌ها: این مطالعه تحلیلی در سال ۱۳۹۱ در آزمایشگاه فرانس دانشگاه علوم پزشکی قزوین انجام شد. سلول‌های سرطانی پانکراس انسان (PANC-1) در فلاسک‌های ۷۵ سانتی‌متری کشت و تکثیر شدند. سپس 3×10^6 سلول در پلیت‌های ۶ خانه‌ای تحت تأثیر داروهای مؤثر بر سیگنال‌های خاص درون سلولی قرار گرفتند و میزان تغییر بیان ژن دلتا-۶ دساتوراز در شرایط یکسان، یک بار با خاموش کننده فلورسنت و بار دیگر با خاموش کننده غیرفلورسنت با روش Real-time PCR بررسی شد. داده‌ها با آزمون آماری تی و براساس روش $\Delta\Delta CT$ با فرض کارایی ۱۰۰ درصد تحلیل شدند.

یافته‌ها: خاموش کننده‌های فوق، با جذب متفاوت نشر گزارش گر (Reporter)، باعث تفاوت در نتایج حاصل از Real-time PCR شدند. پلات آمپلیفیکیشن هنگام استفاده از خاموش کننده غیرفلورسنت، دقیق تر و میزان خط پایه (Base line) پایین تر بود و به این ترتیب نسبت سیگنال به noise کاهش یافت. با استفاده از خاموش کننده غیرفلورسنت، به دلیل افزایش دمای ذوب (Tm) و کاهش اتصالات غیراختصاصی، میزان عددی دوره آستانه (CT) نیز کاهش یافت.

نتیجه گیری: با توجه به یافته‌ها، استفاده از خاموش کننده غیرفلورسنت نسبت به فلورسنت مناسب تر و جایگزین بهتری برای خاموش کننده‌های متداول، به خصوص در مطالعه‌های تشخیصی آلل‌ها و SNP (single nucleotide polymorphism) بود.

کلیدواژه‌ها: Real-time PCR، دلتا-۶ دساتوراز، رده سلولی

*مقدمه:

بسیاری از زمینه‌های کاربردی و تحقیقی شد. در سال ۱۹۹۶ شرکت ABI (Applied Biosystems)، روش Real-time PCR را به عنوان حساس‌ترین روش برای آشکارسازی اسیدهای نوکلئیک معرفی کرد.^(۱) این روش کمی‌سازی دقیق را به کمک مولکول‌های فلورسنت فراهم

پس از ابداع روش PCR توسط کری مولیس در سال ۱۹۸۳، تحول‌های اساسی در زیست‌شناسی پایه و کاربردی به وجود آمد. اگرچه PCR روشی ساده و با محدودیت‌های مشهودی بود، ولی نوآوری‌های با ارزش در طول زمان باعث پیشرفت و به کارگیری آن در